

Aus dem Institut für Genetik
der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. LÜERS)

Versuche über einen genetischen Strahlenschutz
durch Chemikalien an *Drosophila melanogaster*

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch - Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gisela Winterfeld
aus Stettin

1966

Druck:
ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.
DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE
1 Berlin 33, Garystr. 45

Aus dem Institut für Genetik
der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. LÜERS)

**Versuche über einen genetischen Strahlenschutz
durch Chemikalien an *Drosophila melanogaster***

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch - Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gisela Winterfeld
aus Stettin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. LÜERS
2. Berichterstatter: Prof. Dr. ULRICH



Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juli 1963

Tag der Promotion: - **7. APR. 1964**

Inhaltsübersicht

Seite

I. Einleitung	5
II. Material und Methodik	8
III. Versuche und Ergebnisse	11
1. Vorbehandlung mit Aqua dest.	11
2. Vorbehandlung mit Cystein und Glutathion	14
3. Vorbehandlung mit Peroxydase	20
4. Vorbehandlung mit Ascorbinsäure	27
IV. Diskussion	30
V. Zusammenfassung	38
Literaturverzeichnis	39



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550805_0077

I. Einleitung

Seit über einem Jahrzehnt wissen wir aus Versuchen an bestrahlten Säugern, daß es mehrere Gruppen von chemischen Stoffen gibt, durch die ein partieller somatischer Strahlenschutz bewirkt wird. Daraus ergibt sich die Frage, ob in diesen Schutz des Individuums auch die Folgegenerationen eingeschlossen sind, d.h. ob durch solche Stoffe zugleich die in den Keimzellen durch Strahlen induzierten Mutationen in ihren Raten reduziert werden. Es soll die Aufgabe dieser Arbeit sein, eine Anzahl solcher im somatischen Bereich wirksamer Stoffe auf ihre strahlen genetische Wirksamkeit zu untersuchen bzw. solche Stoffe zu prüfen, von denen auf Grund ihrer chemischen Eigenschaften vermutet werden kann, daß sie in radiochemische Prozesse protektiv eingreifen.

Unter der Einwirkung ionisierender Strahlung bilden sich nach WEISS (1946) in Wasser H- und OH-Radikale, die bei dünn ionisierender Strahlung leicht zu H_2O rekombinieren. Bei dicht ionisierenden Strahlen (α -Strahlen) dagegen reagieren vorwiegend die OH-Radikale untereinander und bilden H_2O_2 . Ist im bestrahlten Wasser Sauerstoff gelöst, so wird die Rekombination zu Wasser auch bei dünn ionisierender Strahlung zugunsten der Bildung von HO_2 und Wasserstoffperoxyd zurückgedrängt.

Über die Abhängigkeit der Wasserstoffperoxydbildung von der Strahlendosis und vom Sauerstoffgehalt einer bestrahlten Lösung berichtet EBERT (1955). Organische Verbindungen können ebenfalls unter der Einwirkung von Strahlen peroxydiert werden. SCHOLES und Mitarb. (1956, 1960) und APELGOT und Mitarb. (1962) wiesen die Peroxydation von Nukleinsäurebestandteilen in wässriger Lösung nach.

Die pflanzliche und tierische Zelle weist einen hohen Wassergehalt auf. In ihr finden grundsätzlich die gleichen Reaktionen wie in bestrahltem Wasser statt. Nach Untersuchungen von RAJEWSKY (1952) ist nur ein kleiner Teil der biologischen Wirkung ionisierender Strahlung mit den Begriffen der klassischen Treffertheorie, d.h. der direkten Energieabsorption am Erfolgsorgan, zu erklären. Ein bedeutender Teil der Strahlenwirkung wird durch die Reaktionen der im Wasser gebildeten Radikale und ihrer Folgeprodukte mit in der Zelle vorhandenen Substanzen hervorgerufen.

Wasserstoffperoxyd und die Radikale OH und HO_2 sind starke Oxydationsmittel, die anorganische und organische Verbindungen zu oxydieren vermögen. Nach Ausführungen von BARRON (1954) finden strahleninduzierte Reduktionen nur in anorganischen Systemen statt, die für den lebenden Organismus keinerlei Bedeutung haben, während auf Grund des hohen Redoxpotentials der Radikale OH und HO_2 und des Wasserstoffperoxyds, das diejenigen aller bekannten biologischen Systeme übertrifft, in der lebenden Zelle nur Oxydationen zu erwarten sind.

Zahlreiche strahlenbiologische Arbeiten, in denen die Strahlenwirkung durch Herabsetzung des Sauerstoffdruckes oder Zufuhr von Reduktionsmitteln verringert werden konnte, weisen auf die bedeutende Rolle des Sauerstoffs bei der Auslösung eines Strahlenschadens hin.

Die strahlenbedingte Schädigung des genetischen Materials ist ebenso wie die anderer biologischer Systeme dem Sauerstoffeffekt unterworfen. Nachdem schon THODAY und READ (1947, 1949) beobachtet hatten, daß die Zahl strahleninduzierter Brücken und Fragmente in der Anaphase von *Vicia faba*-Wurzelspitzen unter anaeroben Bedingungen herabgesetzt wird (bei Anwendung von Röntgenstrahlen in weit stärkerem Maße als bei α -Strahlung), gelang es BAKER und SGOURAKIS (1950) erstmalig, durch Stickstoffzufuhr während der Bestrahlung die Rate rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren in röntgenbestrahlten *Drosophila*- $\delta\delta$ zu vermindern. Bestätigt wurde der Einfluß einer Herabsetzung des Sauerstoffdruckes auf die strahlenbedingte Mutabilität durch BAKER und EDINGTON (1952) bei *Drosophila* und durch WHITING (1954) bei *Habrobracon*.

Weitere Untersuchungen bewiesen, daß der Sauerstoffeffekt von verschiedenen Faktoren abhängig ist. BAKER und von HALLE (1952, 1953) beobachteten geringeren Einfluß des Sauerstoffs auf die Induktion dominanter Letalfaktoren gegenüber dem auf rezessive Letale. HAAS und Mitarb. (1952) fanden einen Einfluß der Temperatur auf die sauerstoffabhängige Strahleninduktion von Translokationen. Abhängigkeit des Sauerstoffeffektes vom Entwicklungsstadium der Spermien von *Drosophila* zur Zeit der Bestrahlung stellten ALEXANDER und STONE (1955), FRITZ-NIGGLI (1958 a, 1959, 1961 a) und CHANG und Mitarb. (1959) fest.

Injektion reduzierender Verbindungen vor einer Röntgenbestrahlung hatte in Versuchen an *Drosophila* von HÖHNE und Mitarb. (1955) mit Cystein, KAPLAN und LYON (1953) mit Mercaptoäthylamin und NAKAO und Mitarb. (1955) mit der gleichen Substanz beim Seidenspinner keine Wirkung auf die strahlenbedingte Mutationshäufigkeit. EDINGTON (1958) erzielte bei *Drosophila* eine signifikante Erhöhung der Rate rezessiver Letalfaktoren im X-Chromosom nach Injektion von Amino-äthylisothioharnstoff (AET) und anschließender Röntgenbestrahlung gegenüber nur bestrahlten Kontrolltieren.

Eine Beeinflussung des Stoffwechsels durch Injektion von Megaphen vermochte in Versuchen von LÜERS (1959) die röntgenstrahleninduzierte Mutationsrate bei *Drosophila* nicht herabzusetzen, während FRITZ-NIGGLI (1961 b) durch Applikation von 2,4-Dinitrophenol eine signifikante Verminderung erreichte.

Es besteht die Möglichkeit, daß ein Teil der mutagenen Strahlenwirkung auf das in wässriger Lösung gebildete Wasserstoffperoxyd bzw. organische Peroxyde zurückzuführen ist. Mutagene Wirkung von Peroxyden wurde bei einigen Organismen nachgewiesen, so von WYSS und Mitarb. (1948) bei Bakterien, WAGNER und Mitarb. (1950) und DICKEY und Mitarb. (1949, zit. nach WESTERGAARD 1957) bei Neurospora. D'AMATO und GUSTAFSSON (1948) erhöhten die Häufigkeit strahleninduzierter Mutationen durch Vorbehandlung von Gerstensamen mit H_2O_2 und Kaliumcyanid, einem Katalasegift.

Wasserstoffperoxyd hat bei *Drosophila* keine mutagene Wirkung. ALTENBURG (1954) konnte jedoch unter bestimmten Versuchsbedingungen eine Steigerung der spontanen Mutabilität bei *Drosophila* durch tertiäres

Butyl-hydroperoxyd nachweisen. SOBELS (1956 a) fand beim gleichen Objekt mutagene Wirksamkeit von Dihydroxy-dimethylperoxyd, das auch die Anzahl strahleninduzierter rezessiver Letalfaktoren zu erhöhen vermochte. LÜERS und RÖHRBORN (1961) weisen darauf hin, daß die genetische Unwirksamkeit des Wasserstoffperoxyds bei *Drosophila* möglicherweise auf die hohe Aktivität peroxydatischer Enzyme in diesem Insekt zurückzuführen ist. Hemmung der Katalase durch Applikation von Cyanid oder Azid rief in Versuchen von SOBELS (1955, 1958) mit *Drosophila* größere Häufigkeit strahleninduzierter Mutationen in bestimmten Stadien der Spermatogenese hervor. Dieses Ergebnis scheint darauf hinzuweisen, daß Peroxyde bei der Auslösung von Mutationen unter dem Einfluß einer Bestrahlung beteiligt sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Versuch unternommen, die Anzahl röntgeninduzierter rezessiver Letalfaktoren im X-Chromosom von *Drosophila melanogaster* durch Vorbehandlung mit Chemikalien herabzusetzen. Vorbehandelt wurde mit den leicht oxydierbaren Sulphydrylverbindungen Cystein und Glutathion (reduzierte Form), dem peroxydabbauenden Ferment Peroxydase und mit Ascorbinsäure. Ascorbinsäure kann nach THEORELL (1957) bei der peroxydatischen Reaktion als Wasserstoffdonator dienen und könnte daher einen Einfluß auf die Konzentration von Peroxyden im bestrahlten Objekt haben.

II. Material und Methodik

Mit Chemikalien und Röntgenstrahlen wurden 1-3 Tage alte adulte Männchen von *Drosophila melanogaster* des Stammes Berlin wild ("+") behandelt, die vorher nicht isoliert, sondern in Massenkulturen mit Weibchen zusammen gehalten wurden. Die Substanzen wurden den ätherisierten Männchen als 0,5%ige wässrige Lösung vor der Bestrahlung abdominal in einer solchen Menge injiziert, daß die Intersegmentalhäute sichtbar wurden. Die Injektion erfolgte in einem Zeitraum von 5-60 min vor der Bestrahlung. Als Injektionsapparatur diente ein Füllfederhalter, dessen Feder und Federhalterung entfernt und durch einen durchbohrten Gummistopfen ersetzt war, durch den die Injektionsnadel gezogen wurde. Als Injektionsnadeln wurden an beiden Enden offene Schmelzpunktröhrchen verwendet, die über kleinster Flamme zur erforderlichen Feinheit ausgezogen worden waren. Nach der Injektion wurden die Fliegen in Gelatinekapseln gleichzeitig mit nicht vorbehandelten Männchen (Kontrolltiere) bestrahlt.

Im folgenden werden die mit Chemikalien vorbehandelten und bestrahlten Tiere eines jeden Versuches als "Gruppe A" bezeichnet, die unvorbehandelten, nur bestrahlten Tiere als "Gruppe B" (Kontrolle).

Für die Bestrahlung diente das Röntgentherapie-Gerät RT 100 der Firma Müller, Hamburg, bestrahlt wurde mit 100 kV, 8 mA, 1,70 mm Aluminiumfilter und einem Fokusabstand von 15 cm vom Objekt. Die Dosisleistung betrug 468 r/min. Die applizierte Dosis betrug stets 1500 r, bei Glutathion wurde zusätzlich ein Versuch mit 500 r durchgeführt.

Die Häufigkeit rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren wurde mittels der Muller-5-Methode (M-5-Methode) bestimmt. Die behandelten Männchen wurden unmittelbar nach der Bestrahlung nochmals ätherisiert und in Einzelkreuzungen mit unbefruchteten Weibchen des M-5-Stammes angesetzt. In Abständen von jeweils 3 Tagen erfolgten erneut Paarungen der Männchen mit virginen M-5-♀♀. Die Tiere wurden dafür stets auf neue Kulturgläschen umgesetzt, die alten Weibchen abgetötet. Das Zeitintervall von 3 Tagen wird im folgenden als eine "Serie" bezeichnet. Die Aufstellung eines Brutmusters durch Weibchenwechsel in Abständen von 3 Tagen macht es möglich, unterschiedliche Reaktionen verschiedener Spermatogenesestadien auf die Behandlung festzustellen. Aus Einzelkreuzungen der heterozygoten F₁-♀♀ mit ihren M-5-Brüdern wurde die 2. Filialgeneration gezogen. Jede Kultur der F₂ wurde auf das Auftreten bzw. Fehlen von Männchen des Wildtyps untersucht.

Das Muller-5-Verfahren zur Bestimmung rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren soll kurz erläutert werden. Die Tiere des M-5-Stammes enthalten im X-Chromosom neben dem dominanten Faktor Bar (B, bandförmige Augen) die rezessiven Faktoren scute⁸ (sc⁸, Fehlen von Borsten auf dem Scutellum) und white-apricot (wa, aprikosefarbene Augen), sowie zwei große Inversionen zur Verhinderung eines Faktorenaustausches.

Bei der Kreuzung eines M-5-Weibchens mit einem Wildmännchen (+ ♂) ergibt sich folgendes Schema:

P	<u>M-5</u>	x	<u>+</u>	
	M-5			
F ₁	<u>M-5</u>	x	<u>M-5</u>	heterozygote ♀♀ mit roten (normalfarbigen), nierenförmigen (Barheterozygoten) Augen u. normaler Borstenzahl;
	+			hemizygot M-5 ♂♂
F ₂	<u>M-5</u> ;	<u>+</u> ;	<u>M-5</u> <u>+</u>	je 50% der ♀♀ homozygot und heterozygot M-5;
	M 5	M-5 ;		je 50% der ♂♂ hemizygot M-5 und normal.

Ein in einem Spermium eines bestrahlten Wildmännchens induzierter rezessiver Letalfaktor im X-Chromosom wird an ein heterozygotes Weibchen der F₁-Generation vererbt, das ihn in der 2. Filialgeneration an seine heterozygoten Töchter und seine Söhne vom Wildtyp weitergibt. Während der rezessive Letalfaktor mittels der heterozygoten Weibchen über Generationen weitergezogen werden kann, führt er zum Absterben der hemizygoten Männchen vor Erreichen des fortpflanzungsfähigen Alters. Das Geschlechtsverhältnis in einer solchen Kultur ist dann 2:1.

In den vorliegenden Versuchen wurden als Träger eines Letalfaktors alle Kulturen angesehen, in denen die Zahl der vorhandenen normalen Männchen weniger als 1% der in derselben Kultur gezählten Weibchen betrug. Da die Anzahl der Weibchen in der 2. Filialgeneration gewöhnlich nicht zur Identifizierung eines Letalfaktors ausreichte, wurde eine 3. Generation herangezogen durch Paarung der heterozygoten F₂- ♀♀ mit M-5 ♂♂.

Aus F₂-Kulturen, in denen das zu erwartende Zahlenverhältnis zwischen vorhandenen ♀♀ und + ♂♂ von 2:1 stark zu Ungunsten der + ♂♂ gestört war, wurden jeweils 5 heterozygote Weibchen in Einzelkreuzungen mit M-5 ♂♂ zur 3. Filialgeneration angesetzt, um eine Entscheidung zwischen Semiletfaktoren und Mosaikmutationen möglich zu machen. Beim Auftreten eines Semiletfaktors ist die Anzahl normaler Männchen wie in der 2., so auch in allen Kreuzungen der 3. Filialgeneration reduziert. In einigen Fällen erscheinen unter den vom gleichen F₁ ♀ stammenden Kulturen der 3. Filialgeneration sowohl solche mit unverminderter Zahl normaler Männchen, als auch solche ohne normale Männchen. Das F₁ ♀, das diese Nachkommen lieferte, war dann möglicherweise ein Gonadenmosaik, d. h. in einem Teil seines Ovars trug es den Letalfaktor, im anderen Teil nicht. Es besteht aber in diesem Fall auch die Möglichkeit, daß durch Einwirkung des Mutagens zunächst ein instabiler

Zustand erzeugt wurde, der erst in späteren Teilungsschritten zur Mutation führte (vgl. AUERBACH 1946). Mosaiks treten nach Behandlung von Drosophila-Männchen mit chemischen Mutagenen weit häufiger auf als nach Bestrahlung.

Die in der vorliegenden Arbeit registrierten Letalfaktoren schließen Mosaikmutationen ein, deren Penetranz mehr als 99% betrug.

III. Versuche und Ergebnisse

1. Vorbehandlung mit Aqua dest.

Da als Lösungsmittel für die in den vorliegenden Versuchen geprüften Substanzen Aqua dest. verwendet wurde, wurde zunächst untersucht, ob Injektion von destilliertem Wasser (Ad) allein einen merklichen Einfluß auf die Häufigkeit rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bestrahlter Männchen hat. In 3 Versuchen wurden mit Aqua dest. vorbehandelte Männchen gleichzeitig mit 1500 r bestrahlt und die Nachkommen von 3 bzw. 6 Serien untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Mutationsraten der 3 Einzelversuche zeigen keine gesicherte Differenz untereinander. Ihre Werte wurden serienweise zusammengefaßt und eine Fehlerrechnung nach dem χ^2 -Verfahren bzw. dem Verfahren von STEVENS durchgeführt. Hier, wie in den folgenden Tabellen, wurden die Mutationsgrenzen nach STEVENS für $P = 0,005$ angegeben, wenn die Anzahl der Mutationen für die Anwendung des χ^2 -Verfahrens nicht ausreichte. Die Mutationsraten der vorbehandelten Gruppe A stimmen in den Serien I und II, sowie IV bis VI gut mit denen der nur bestrahlten Gruppe B überein. In der III. Serie wurden, bedingt durch die hohe Sterilität der bestrahlten Männchen während dieser Periode, weniger Chromosomen ausgewertet. Der Prozentsatz der aufgetretenen Letalfaktoren ist in dieser Serie bei den nur bestrahlten Tieren der Gruppe B höher als der der Gruppe A, liegt aber auch innerhalb der Schwankungsbreite der Mutationsrate der mit Aqua dest. vorbehandelten Tiere.

Nach den vorliegenden Ergebnissen beeinflusst demnach Injektion von Aqua dest. vor einer Röntgenbestrahlung die Häufigkeit strahleninduzierter rezessiver Letalfaktoren bei *Drosophila* nicht.

Tabelle 1 a

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Aqua dest. (Ad) und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r

Gruppe A				Gruppe B		
Aqua dest. + 1500 r				1500 r		
Serie	Zahl der			Zahl der		
	unters. X-Chromos.	rez. Letalf.	% Letalf.	unters. X-Chromos.	rez. Letalf.	% Letalf.
Versuch Ad ₁ :		53 P-♂♂		12 P-♂♂		
I	375	16	4,27	118	4	3,39
II	200	14	7,00	80	4	5,00
III	35	2	5,71	19	2	10,35
Versuch Ad ₂ :		44 P-♂♂		14 P-♂♂		
I	364	26	7,14	159	9	5,66
II	396	32	8,08	129	11	8,53
III	114	7	6,14	86	7	8,14
IV	265	5	1,89	126	2	1,59
V	739	13	1,76	362	6	1,66
VI	576	7	1,22	367	4	1,09
Versuch Ad ₃ :		58 P-♂♂		14 P-♂♂		
I	404	14	3,47	224	8	3,57
II	124	8	6,45	97	9	9,28
III	27	1	3,70	9	1	11,11
IV	204	4	1,96	67	-	0,0
V	581	4	0,69	177	-	0,0
VI	579	3	0,52	100	-	0,0

Tabell 1 b

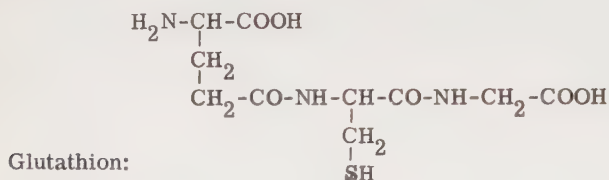
Fehlerstatistischer Vergleich der Gruppen A und B nach den Experimentalergebnissen aus Tabelle 1 a

Serie	Gruppe A Aqua dest. + 1500 r			Gruppe B 1500 r		
	Zahl der unters. X-Chromos.	rez. Letalf.	% Letalf.	Zahl der unters. X-Chromos.	rez. Letalf.	% Letalf.
Versuch Ad ₁₋₃ :						
I	1143	56	4,90	501	21	4,19
		$X_1^2 = 0,38; P = 0,54$				
II	720	54	7,50	306	24	7,84
		$X_1^2 = 0,032; P = 0,86$				
III	176	10	5,68	114	10	8,77
	$P = 0,005;$		2,114%	$P = 0,005;$		3,263%
			12,159%			18,772%
IV	469	9	1,92	193	2	1,04
	$P = 0,005;$		0,667%	$P = 0,005;$		0,053%
			4,264%			4,803%
V	1320	17	1,29	539	6	1,11
		$X_1^2 = 0,096; P = 0,75$				
VI	1155	10	0,87	467	4	0,86
	$P = 0,005$		0,322%	$P = 0,005$		0,144%
			1,853%			2,696%

2. Vorbehandlungen mit Cystein und mit Glutathion



Für die Cystein-Behandlung (Ct) wurde das Präparat Hormodyn forte (5%iges Cystein puriss. in wässriger Lösung) der Nordmark-Werke, Hamburg, mit Aqua dest. verdünnt und als 0,5%ige Lösung appliziert. Diese Konzentration wurde von den Tieren - im Gegensatz zum unverdünnten Präparat - gut vertragen.



Reduziertes Glutathion (Gl) der Firma Feinchemie, Berlin, wurde ebenfalls als 0,5%ige wässrige Lösung verabfolgt. Tabelle 2 zeigt die Mutationsraten in 6 aufeinanderfolgenden Serien nach Cystein-Vorbehandlung und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r, Tabelle 3 a und b die Ergebnisse in 3 bzw. 6 Serien nach Vorbehandlung mit reduziertem Glutathion und anschließender Bestrahlung mit 1500 r bzw. 500 r.

In den Serien I bis IV unterscheiden sich die in der mit Cystein vorbehandelten Gruppe A aufgetretenen Mutationsraten nicht von denen der nur bestrahlten Gruppe B. in der V. Serie wurden in Gruppe A des Versuches Ct₂ 9 Letalfaktoren unter 647 untersuchten Chromosomen induziert, in der nur bestrahlten Gruppe B trat dagegen unter 433 Chromosomen kein Letalfaktor auf. Versuch Ct₃ zeigt etwa entgegengesetzte Ergebnisse: In Gruppe A wurden allerdings nur 98 Chromosomen ausgezählt, unter denen keine Letalmutation auftrat. In Gruppe B wurden unter 476 untersuchten Chromosomen 14 Letale gefunden. Die Differenzen zwischen den Mutationsraten der Gruppe A und der Gruppe B sind in beiden Versuchen nicht signifikant. Zusammenfassung der V. Serien der Versuche Ct₂ und Ct₃ ergibt in Gruppe A einen Prozentsatz an Letalfaktoren von 1,21, der mit dem der Gruppe B von 1,54 gut übereinstimmt.

In der VI. Serie des Versuches Ct₂ wurde unter 635 Chromosomen von Cystein-vorbehandelten und unter 491 Chromosomen von nur bestrahlten ♂♂ kein Letalfaktor gefunden. In Versuch Ct₂ wurde unter nur 72 Chromosomen der Gruppe A kein Letalfaktor induziert, unter 486 Chromosomen der Gruppe B traten 15 Letalfaktoren auf. Die Prozentsätze von 0,0 und 3,09 sind nicht signifikant verschieden. Zusammenfassung beider Versuche ergibt bei 707 untersuchten Chromosomen eine Mutationsrate von 0,0% in Gruppe A. In Gruppe B wurde bei 15 rezes-

siven Letalen unter 977 Chromosomen eine signifikant höhere Mutationsrate von 1,54% errechnet. Da diese 15 Letalfaktoren in der Nachkommenschaft eines P-Männchens auftraten, ist die Signifikanz jedoch nicht beweiskräftig (vgl. Diskussion).

In zwei Versuchen, in denen Männchen nach Injektion einer 0,5%igen Lösung von Glutathion einer Röntgenbestrahlung von 500 r ausgesetzt und Nachkommen von 5 bzw. 6 Serien untersucht wurden, wurde gegenüber den zwei Dreiserienversuchen mit der höheren Strahlendosis von 1500 r kein deutliches Maximum der Mutationsrate in der II. und III. Serie beobachtet. Aus den Tabellen 3 a und b ist ersichtlich, daß Injektion von Glutathion vor Röntgenbestrahlung mit 1500 r bzw. 500 r die Rate strahleninduzierter rezessiver Letalfaktoren nicht beeinflusste.

Tabelle 2 a

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Cystein (Ct) und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r

Gruppe A Cystein + 1500 r				Gruppe B 1500 r		
Serie	X-Chromos.	Zahl der unters. rez. Letalf.	% Letalf.	X-Chromos.	Zahl der unters. rez. Letalf.	% Letalf.
Versuch Ct ₁ : 42 P-♂♂						
I	592	16	2,70	736	24	3,26
Versuch Ct ₂ :						
I	647	32	4,95	430	21	4,88
II	546	37	6,78	630	44	6,98
III	166	20	12,05	157	16	10,19
IV	504	7	1,39	268	7	2,61
V	647	9	1,39	433	-	0,0
VI	635	-	0,0	491	-	0,0
Versuch Ct ₃ : 26 P-♂♂				20 P-♂♂		
I	333	12	3,60	328	19	5,79
II	48	5	10,42	155	7	4,52
III	16	1	6,25	90	6	6,67
IV	30	-	0,0	229	2	0,87
V	98	-	0,0	476	14	2,94
VI	72	-	0,0	486	15	3,09

Tabelle 2 b

Fehlerstatistischer Vergleich der Gruppen A und B nach den Experimentalergebnissen aus Tabelle 2 a

Gruppe A Cystein + 1500 r			Gruppe B 1500 r		
Serie	Zahl der unters. rez. X-Chromos. Letalf.	% Letalf.	Serie	Zahl der unters. rez. X-Chromos. Letalf.	% Letalf.
Versuch Ct ₁₋₃ :					
I	1572	60	1494	64	4,28
		3,82			
		$X_1^2 = 0,42; P = 0,52$			
II	594	42	785	51	6,50
		7,07			
		$X_1^2 = 0,18; P = 0,67$			
III	182	21	247	22	8,91
		11,54			
		$X_1^2 = 0,81; P = 0,37$			
IV	534	7	497	9	1,81
		1,31			
	$P = 0,005;$	$0,382\%$ $3,208\%$	$P = 0,005$		$0,630\%$ $4,024\%$
V	745	9	909	14	1,54
		1,21			
		$X_1^2 = 0,35; P = 0,56$			
VI	707	-	977	15	1,54
		0,0			
		$X_1^2 = 10,96; P = 0,001$			

Tabelle 3 a

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Glutathion (Gl) und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r.

Gruppe A Glutathion + 1500 r				Gruppe B 1500 r		
Serie X-Chromos.		Zahl der unters. rez. Letalf.	% Letalf.	X-Chromos.		% Letalf.
Versuch Gl ₁ :		55 P- ♂♂		15 P- ♂♂		
I	758	22	2,90	238	5	2,10
II	707	49	6,93	317	14	4,42
III	162	12	7,41	31	3	9,68
Versuch Gl ₂ :		45 P- ♂♂		15 P- ♂♂		
I	434	17	3,92	117	4	3,42
II	442	30	6,79	149	9	6,04
III	115	5	4,35	33	1	3,03
Glutathion + 500 r				500 r		
Versuch Gl ₃ :		59 P- ♂♂		12 P- ♂♂		
I	385	15	3,90	238	4	1,68
II	470	12	2,55	212	6	2,83
III	127	3	2,36	33	-	0,0
IV	295	2	0,68	102	2	1,96
V	470	7	1,49	156	1	0,64
Versuch Gl ₄ :		71 P- ♂♂		15 P- ♂♂		
I	1235	18	1,46	318	5	1,57
II	932	30	3,22	130	2	1,54
III	787	24	3,05	54	-	0,0
IV	1375	18	1,31	219	3	1,37
V	1597	6	0,38	271	-	0,0
VI	1290	1	0,08	267	1	0,37

Tabelle 3 b

Fehlerstatistischer Vergleich der Gruppen A und B nach den Experimentalergebnissen aus Tabelle 3 a

Gruppe A				Gruppe B		
Glutathion + 1500 r				1500 r		
Serie	Zahl der		% Letalf.	X-Chromos.	Zahl der	
	unters. X-Chromos.	rez. Letalf.			unters. Letalf.	rez. Letalf.
Versuch Gl ₁₋₂ :						
I	1192	39	3,27	355	9	2,54
				$X_1^2 = 0,49; P = 0,48$		
II	1149	79	6,88	466	23	4,94
				$X_1^2 = 2,13; P = 0,14$		
III	277	17	6,14	64	4	6,25
				$X_1^2 = 0,0034; P = 0,955$		
Glutathion + 500 r				500 r		
Versuch Gl ₃₋₄ :						
I	1620	33	2,04	556	9	1,62
				$X_1^2 = 0,37; P = 0,54$		
II	1402	42	3,00	342	8	2,34
				$X_1^2 = 0,42; P = 0,52$		
III	914	27	2,95	87	-	0,0
				$X_1^2 = 2,58; P = 0,1$		
IV	1670	20	1,20	321	5	1,56
				$X_1^2 = 0,30; P = 0,59$		
V	2067	13	0,63	427	1	0,23
				$X_1^2 = 0,99; P = 0,32$		
VI	1290	1	0,08	267	1	0,37
				$P = 0,005; 0,00039\%$		
				$0,576\%$		
				$P = 0,005; 0,002\%$		
				$2,783\%$		

3. Vorbehandlung mit Peroxydase

Frisch zubereitete 0,5%ige wässrige, eisgekühlte Lösung von Meerrettich-Peroxydase (Pd) der Firma Feinchemie, Berlin, wurde sehr gut vertragen. Die gleiche Lösung wurde aber nach 3 bis 4 stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur toxisch. Männchen, denen eine solche Lösung injiziert wurde, starben größtenteils innerhalb von etwa 6 Stunden nach Injektion ab, ohne sich deutlich aus der Äthernarkose erholt zu haben. In den vorliegenden Versuchen wurde nur eisgekühlte Peroxydase-Lösung verwendet, die unmittelbar vor Gebrauch zubereitet wurde. Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Versuche über 10 Serien, in denen den Männchen vor Bestrahlung mit einer Röntgendosis von 1500 r Peroxydase-Lösung appliziert wurde, verglichen mit den Ergebnissen der nur bestrahlten Kontrollen.

In der I. und II. Serie scheint sich nach Peroxydase-Injektion vor der Bestrahlung eine Tendenz zur Erhöhung der Mutationsrate gegenüber nur Bestrahlung anzudeuten. Eine Ausnahme bildet Versuch Pd₃, in dem bei der vorbehandelten Gruppe A in Serie I eine niedrigere Mutationsrate beobachtet wurde als in der nur bestrahlten Gruppe B. Die hohe Sterilität der bestrahlten Männchen während des 6. bis 9. Tages nach der Bestrahlung bedingte einen Abfall der Anzahl untersuchter Chromosomen in Serie III. Ein Einfluß der Vorbehandlung mit Peroxydase in den Einzelversuchen läßt sich daher in dieser Serie nicht feststellen. Der Vergleich der zusammengefaßten Werte der vorbehandelten Gruppe A mit denen der nur bestrahlten Gruppe B dieser Serie ergibt einen etwas geringeren Prozentsatz an Letalfaktoren nach Vorbehandlung mit Peroxydase.

In den Serien IV bis X war bei den Einzelversuchen in der Mehrzahl der Fälle die Häufigkeit strahleninduzierter Letalfaktoren nach Vorbehandlung mit Peroxydase gegenüber der nur bestrahlten Tiere etwas herabgesetzt. In einigen Fällen war jedoch die Mutationsrate in Gruppe A etwas größer als in Gruppe B, so im Versuch Pd₁ in Serie IV, in den Versuchen Pd₂ und Pd₃ in Serie V, Pd₂ und Pd₄ in Serie VI und im Versuch Pd₄ in den Serien IX und X. Von insgesamt 35 Vergleichsmöglichkeiten zwischen Gruppe A und B aus 5 Versuchen und den 7 Serien IV bis X war bei 21 Vergleichspaaren (=60% von 35) die Mutationsrate nach Vorbehandlung mit Peroxydase etwas herabgesetzt, in 7 Fällen etwas erhöht, und betrug in 7 weiteren Paaren - bei zum Teil nur kleinen Zahlen untersuchter Chromosomen - in beiden Gruppen 0,0%. Bei serienweiser Zusammenfassung der 5 Einzelversuche erscheint in den Serien III bis X eine jeweils in Gruppe A geringere Mutationsrate gegenüber der in Gruppe B errechneten. Nur in den Serien VII und VIII ist diese Differenz nach dem χ^2 -Verfahren gesichert.

Für das Säulendiagramm der Abbildung 1 wurden die Ergebnisse der 5 Einzelversuche ebenfalls zusammengefaßt und nebeneinander die Prozentsätze der Letalfaktoren für Peroxydase-vorbehandelte und für nur bestrahlte Tiere für die Serien I bis X eingetragen. Die Abbildung veranschaulicht die Verminderung strahleninduzierter Letalfaktoren in

Tabelle 4 a

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Peroxydase (Pd) und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r

Gruppe A				Gruppe B		
Peroxydase + 1500 r				1500 r		
Serie	X-Chromos.	Zahl der	% Letalf.	X-Chromos.	Zahl der	% Letalf.
		unters. rez. Letalf.			unters. rez. Letalf.	
Versuch	Pd ₁ :	59 P- ♂♂			15 P- ♂♂	
I	266	13	4,89	149	6	4,03
II	297	22	7,41	208	13	6,25
III	138	16	11,59	62	13	20,97
IV	175	4	2,29	177	3	1,69
V	310	2	0,65	228	8	3,51
VI	195	1	0,51	256	4	1,56
VII	126	-	0,0	102	1	0,98
VIII	122	-	0,0	196	8	4,08
IX	42	-	0,0	113	-	0,0
X	60	-	0,0	119	-	0,0
Versuch	Pd ₂ :	59 P- ♂♂			15 P- ♂♂	
I	436	34	7,80	218	15	6,88
II	387	26	6,72	163	5	3,07
III	49	5	10,20	10	1	10,00
IV	361	9	2,49	112	5	4,46
V	455	4	0,88	184	1	0,54
VI	471	4	0,85	374	3	0,80
VII	373	-	0,0	207	7	3,38
VIII	367	-	0,0	155	3	1,94
IX	214	1	0,47	190	11	5,79
X	121	-	0,0	190	7	3,68

Tabelle 4 a (Fortsetzung)

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Peroxydase und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r

Gruppe A				Gruppe B			
Peroxydase + 1500 r				1500 r			
Zahl der				Zahl der			
unters.		rez.	%	unters.		rez.	%
Serie X-Chromos.		Letalf.	Letalf.	X-Chromos.		Letalf.	Letalf.
Versuch Pd ₃ :		67 P-♂♂		20 P-♂♂			
I	279	11	3,94	297	18	6,06	
II	451	38	8,43	261	21	8,05	
III	172	10	5,81	49	3	6,12	
IV	154	-	0,0	215	4	1,86	
V	321	1	0,31	84	-	0,0	
VI	317	3	0,95	304	7	2,30	
VII	197	-	0,0	176	2	1,14	
VIII	115	-	0,0	157	2	1,27	
IX	178	1	0,56	180	3	1,67	
X	106	-	0,0	130	1	0,77	
Versuch Pd ₄ :		77 P-♂♂		25 P-♂♂			
I	1078	47	4,36	646	25	3,87	
II	686	44	6,41	264	12	4,55	
III	163	10	6,13	83	5	6,02	
IV	203	2	0,99	234	4	1,71	
V	364	2	0,55	421	4	0,95	
VI	529	3	0,57	465	-	0,0	
VII	547	-	0,0	351	-	0,0	
VIII	432	-	0,0	353	-	0,0	
IX	329	2	0,61	463	-	0,0	
X	311	1	0,32	275	-	0,0	

Tabelle 4 a (Fortsetzung)

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Peroxydase und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r

Gruppe A				Gruppe B			
Peroxydase + 1500 r				1500 r			
		Zahl der				Zahl der	
		unters.	rez.			unters.	rez.
Serie	X-Chromos.	Letalf.	% Letalf.	X-Chromos.	Letalf.	% Letalf.	
Versuch	Pd ₅ :	104 P-♂♂			25 P- ♂♂		
I	129	4	3,10	208	3	1,44	
II	196	13	6,63	132	4	3,03	
III	14	2	14,29	18	1	5,56	
IV	3	-	0,0	86	-	0,0	
V	156	-	0,0	182	1	0,55	
VI	126	-	0,0	371	4	1,08	
VII	101	-	0,0	226	4	1,77	
VIII	48	-	0,0	221	-	0,0	
IX	61	-	0,0	87	-	0,0	
X	2	-	0,0	67	1	1,49	

Tabelle 4 b

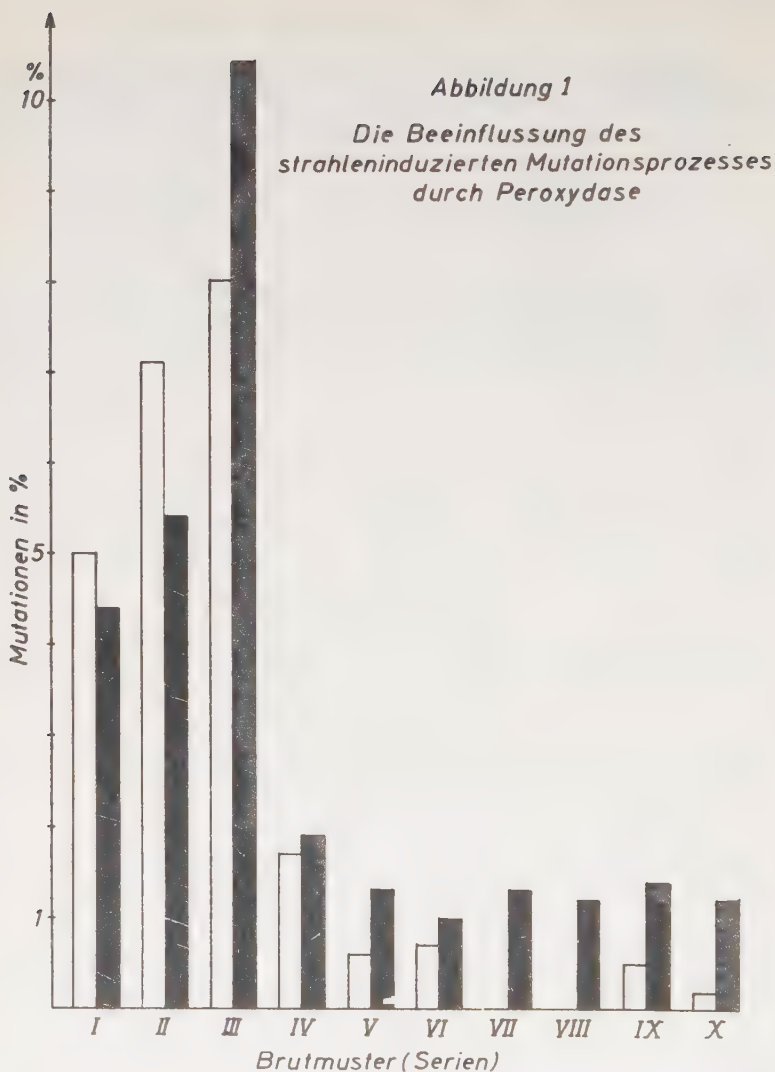
Fehlerstatistischer Vergleich der Gruppen A und B nach den Experimentalergebnissen aus Tabelle 4 a

Gruppe A				Gruppe B			
Peroxydase + 1500 r				1500 r			
Serie	Zahl der		% Letalf.	X-Chromos.	Zahl der		% Letalf.
	unters.	rez.			unters.	rez.	
Versuch Pd ₁₋₅ :							
I	2188	109	4,98	1518	67	4,41	
		$X_1^2 = 0,64; P = 0,42$					
II	2017	143	7,09	1028	55	5,35	
		$X_1^2 = 3,38; P = 0,06$					
III	536	43	8,02	222	23	10,36	
		$X_1^2 = 1,10; P = 0,3$					
IV	896	15	1,67	824	16	1,94	
		$X_1^2 = 0,17; P = 0,68$					
V	1606	9	0,56	1099	14	1,27	
		$X_1^2 = 4,02; P = 0,045$					
VI	1638	11	0,67	1770	18	1,02	
		$X_1^2 = 1,22; P = 0,27$					
VII	1344	-	0,0	1062	14	1,32	
		$X_1^2 = 17,7; P = 3 \times 10^{-5}$					
VIII	1084	-	0,0	1082	13	1,20	
		$X_1^2 = 13,1; P = 3 \times 10^{-4}$					
IX	824	4	0,49	1033	14	1,36	
		$X_1^2 = 3,64; P = 0,05$					

Tabelle 4 b (Fortsetzung)

Fehlerstatistischer Vergleich der Gruppen A und B nach den Experimentalergebnissen aus Tabelle 4 a

Gruppe A				Gruppe B		
Peroxydase + 1500 r				1500 r		
Serie	Zahl der		%	X-Chromos.	Zahl der	
	unters.	rez.			unters.	rez.
	Letalf.	Letalf.	Letalf.		Letalf.	Letalf.
Versuch Pd ₁₋₅ :						
X	600	1	0,17	781	9	1,15
	P = 0,005;		0,0008% 1,238 %		P = 0,005;	
					0,4008% 2,5608%	
III-X	8528	83	0,97	7873	121	1,54
	$X_1^2 = 10,6; P = 0,0013$					
V	1606	9	0,56	1099	14	1,27
	$X_1^2 = 4,02; P = 0,045$					
VI-VII	2982	11	0,37	2832	32	1,13
	$X_1^2 = 11,56; P = 0,0007$					
VIII-X	2508	5	0,20	2896	36	1,24
	$X_1^2 = 19,47; P = 10^{-5}$					
V-X	7096	25	0,35	6827	82	1,20
	$X_1^2 = 35,05; P < 10^{-7}$					



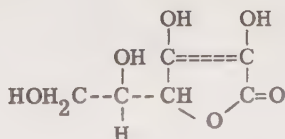
Raten rezessiver geschlechtsgebundener Letalmutationen
in Abhängigkeit vom Keimzellstadium (Serie I-X)
nach Applikation von

Peroxydase + 1500r (weiss);
1500r (schwarz)

den Serien III bis X nach Vorbehandlung mit Peroxydase. Die gleichsinnige Wirkung der Vorbehandlung in allen, den beiden ersten Bruten nachfolgenden Serien, veranlaßte Verfasserin, die Werte der Serien III bis X für die Gruppen A und B zu addieren und einer Fehlerrechnung zu unterziehen. Nach dem χ^2 -Verfahren ist dann die Rate rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren für Gruppe A mit $P = 0,0013$ signifikant kleiner als die für Gruppe B. Bei Zusammenfassung der Serien VI und VII bzw. VIII bis X ergibt sich für die prämeiotisch behandelten Keimzell-Stadien eine hohe Signifikanz. Die Mutationsrate in Gruppe A entspricht in den Serien VIII bis X der spontanen Mutabilität des verwendeten Stammes (vgl. Tabelle 4 b).

4. Vorbehandlung mit Ascorbinsäure

Ascorbinsäure:



Von der Firma Feinchemie, Berlin, bezogene Ascorbinsäure (Ac) wurde als 0,5%ige Lösung injiziert. Nicht vorbehandelte Kontrolltiere wurden gleichzeitig mit den vorbehandelten einer Röntgenstrahlendosis von 1500 r ausgesetzt und Nachkommen aus 10 Serien untersucht. Tabelle 5 gibt die Ergebnisse dieser Versuche an. Ein Einfluß der Injektion von Ascorbinsäure auf die strahleninduzierte Mutationsrate ist aus den Einzelversuchen kaum abzulesen. Zusammenfassung der Werte der Einzelversuche und Vergleich der Mutationsraten in Gruppe A und Gruppe B in jeder Serie läßt die Deutung zu, daß Vorbehandlung mit Ascorbinsäure einen etwas erhöhten Strahleneffekt hervorruft. Eine Sensibilisierung der Keimzellen oder des genetischen Materials gegen die mutagene Strahlenwirkung durch Einfluß der untersuchten Verbindung scheint in der I., III., IV., VIII. und IX. Serie aufgetreten zu sein. Nach dem χ^2 -Verfahren ist die Verstärkung des Strahleneffektes durch Ascorbinsäure in der VIII. Serie signifikant. Unter insgesamt 980 untersuchten Chromosomen der Gruppe A traten in dieser Serie 12 Letalfaktoren auf, in Gruppe B wurde unter 785 Chromosomen kein Letalfaktor induziert. Die 12 Letalfaktoren der Gruppe A wurden sämtlich in Versuch Ac₁ unter 735 untersuchten Kulturen beobachtet.

Tabelle 5 a

Prozentsatz rezessiver geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster* nach Vorbehandlung adulter ♂♂ mit Ascorbinsäure (Ac) und anschließender Röntgenbestrahlung mit 1500 r

Gruppe A				Gruppe B		
Ascorbinsäure + 1500 r				1500 r		
Serie	Zahl der		%	X-Chromos.	Zahl der	
	unters.	rez.			unters.	rez.
	Chromos.	Letalf.	Letalf.		Chromos.	Letalf.
Versuch Ac ₁ :						
I	604	34	5,63	203	4	1,97
II	309	20	6,47	153	15	9,80
III	119	11	9,24	80	5	6,25
IV	254	6	2,36	149	2	1,34
V	671	10	1,49	330	3	0,91
VI	768	14	1,82	196	6	3,06
VII	693	10	1,44	260	1	0,38
VIII	735	12	1,63	330	-	0,0
IX	380	2	0,53	54	-	0,0
X	250	-	0,0	41	-	0,0
Versuch Ac ₂ :						
I	390	13	3,33	552	17	3,08
II	109	9	8,26	396	29	7,32
III	29	1	3,45	121	5	4,13
IV	92	1	1,09	263	1	0,38
V	318	-	0,0	750	8	1,07
VI	214	-	0,0	646	8	1,24
VII	155	1	0,65	569	9	1,58
VIII	60	-	0,0	319	-	0,0
IX	37	-	0,0	234	-	0,0
X	37	-	0,0	127	-	0,0
Versuch Ac ₃ :						
I	519	21	4,05	301	15	4,98
II	171	11	6,43	166	10	6,02
III	83	7	8,43	39	1	2,56
IV	395	8	2,03	164	-	0,0
V	885	1	0,11	254	-	0,0
VI	401	-	0,0	234	-	0,0
VII	270	1	0,37	147	-	0,0
VIII	185	-	0,0	136	-	0,0
IX	185	-	0,0	157	-	0,0
X	80	-	0,0	83	-	0,0

Tabelle 5 b

Fehlerstatistischer Vergleich der Gruppen A und B nach den Experimentalergebnissen aus Tabelle 5 a

Serie	Gruppe A			Gruppe B		
	Ascorbinsäure + 1500 r			1500 r		
	Zahl der unters. X-Chromos.	rez. Letalf.	% Letalf.	Zahl der unters. X-Chromos.	rez. Letalf.	% Letalf.
Versuch Ac ₁₋₃ :						
I	1513	68	4,49	1056	36	3,41
		$X_1^2 = 1,89; P = 0,17$				
II	589	40	6,79	715	54	7,55
		$X_1^2 = 0,28; P = 0,6$				
III	231	19	8,23	240	11	4,58
		$X_1^2 = 2,64; P = 0,1$				
IV	741	15	2,02	576	3	0,52
		$X_1^2 = 5,37; P = 0,02$				
V	1874	11	0,59	1334	11	0,82
		$X_1^2 = 0,64; P = 0,42$				
VI	1383	14	1,01	1076	14	1,30
		$X_1^2 = 0,45; P = 0,5$				
VII	1118	12	1,07	976	10	1,02
		$X_1^2 = 0,012; P = 0,91$				
VIII	980	12	1,22	785	-	0,0
		$X_1^2 = 9,56; P = 0,002$				
IX	602	2	0,33	445	-	0,0
		$P = 0,005; 0,017\%$ $1,540\%$			$P = 0,005; 0,000\%$ $1,191\%$	
X	367	-	0,0	251	-	0,0
		$P = 0,005; 0,000\%$ $1,444\%$			$P = 0,005; 0,000\%$ $2,112\%$	

IV. Diskussion

PATT und Mitarb. (1949, 1950) beobachteten als erste, daß Cystein oder Glutathion vor einer Röntgenbestrahlung appliziert, die Überlebensrate von Ratten gegenüber der nur bestrahlter Tiere erhöht. Die Schutzwirkksamkeit dieser Verbindungen gegen das Absterben totalbestrahlter Kleinsäuger wurde später von verschiedenen Autoren bestätigt. Das gleiche ergab sich bei Untersuchungen mit Cysteamin (β -Mercaptoäthylamin) (vgl. BACQ und HERVE 1954). MIKAELSEN (1952, 1954) teilte die Verringerung der Anzahl γ -strahleninduzierter Chromosomenaberrationen in *Tradescantia*-Wurzelspitzen durch Glutathion und Cystein mit.

Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus dieser Thiolverbindungen ist noch nicht abgeklärt. BARRON und Mitarb. (1949, 1950, 1954) vertreten die Ansicht, daß die SH-Gruppe die wesentliche Rolle spielt. Die Tatsache, daß das Disulfid Cystin, das durch Oxydation der SH-Gruppen zweier Cystein-Moleküle unter Bildung einer -S-S-Bindung entsteht, als Strahlenschutzsubstanz unwirksam ist, scheint diese Interpretation zu stützen. BARRON nimmt an, daß die im Organismus unter der Einwirkung ionisierender Strahlung oxydierten Mercaptogruppen lebenswichtiger Thiole oder SH-haltiger Enzyme, durch zugeführte Sulfhydrylverbindungen wie Cystein oder Glutathion, in ihre ursprüngliche Form zurückverwandelt werden, bzw. die Schutzsubstanzen selbst durch die Bestrahlung oxydiert und so eine Schädigung von zelleigenen Thiolgruppen abgewendet wird. BARRON und Mitarb. (1950) gelang der Nachweis der Oxydation der SH-Gruppe von Glutathion durch ionisierende Strahlung, sowie die teilweise Reaktivierung strahlengeschädigter SH-Enzyme in vitro durch die gleiche Verbindung (BARRON u. DICKMAN 1949). Die Einschaltung reduzierender Schutzstoffe wie Cystein und Glutathion in strahlenoxydative Prozesse nimmt ebenfalls MIKAELSEN (1954) an. HOLLAENDER und STAPLETON (1953, zit. nach BACQ und ALEXANDER 1958), die die Wirkung vieler Strahlenschutzstoffe durch deren Sauerstoffverbrauch beim Eintritt in die Zelle und daraus resultierender Herabsetzung der intrazellulären O_2 -Spannung erklären, finden diese Erklärung für Cystein und andere SH-Verbindungen nicht ausreichend. BACQ und Mitarb. (1954, 1958) bestreiten sowohl die entscheidende Rolle, die das Reduktionsvermögen einer Verbindung für ihre Strahlenschutzwirksamkeit haben könnte, als auch die überragende Bedeutung aktiver SH-Gruppen. Sie weisen darauf hin, daß selbst eine physiologische Substanz mit starkem Reduktionsvermögen wie Ascorbinsäure, nur geringen Effekt hervorruft, und betonen, daß in ihren Versuchen das Disulfid Cystamin etwa gleich großen Schutz wie Cysteamin, das eine SH-Gruppe besitzt, ausübte. BACQ und Mitarb. nehmen vielmehr an, daß der allgemeine Wirkungsmechanismus strahlenschützender Substanzen auf ihrer Konkurrenz um die strahleninduzierten freien Radikale des Wassers, wahrscheinlich vor allem der HO_2 -Radikale, mit zelleigenen Verbindungen beruht. Die Abhängigkeit der Bildung der HO_2 -Radikale vom Sauerstoffgehalt des bestrahlten Wassers würde bei dieser Hypothese auch die teilweise parallelen Er-

gebnisse bei einem Strahlenschutz durch Applikation chemischer Verbindungen und einem solchen durch Sauerstoffmangel erklären.

Erwähnt sei hier außerdem der schon von BACQ vorgebrachte und in einer Veröffentlichung von JONES (1960) wieder aufgegriffene Hinweis, daß einige Strahlenschutzverbindungen, z.B. Glutathion und Cysteamin, die typische Struktur chelatbildender Substanzen zeigen und einen Schutzeffekt dadurch hervorrufen könnten, daß sie Schwermetallionen in Form stabiler Chelate binden.

Versuche, durch Sulfhydrylverbindungen auch die Strahleninduktion rezessiver und dominanter Mutationen herabzusetzen, hatten stets negative Resultate. Cystein und β -Mercaptoäthylamin (Cysteamin) verringerten in Versuchen von NAKAO und Mitarb. (1955) bei der Seidenraupe die Anzahl sichtbarer Mutationen nicht und senkten nach KAPLAN und LYON (1953) und HÖHNE und Mitarb. (1955) auch nicht die Häufigkeit rezessiver und dominanter Letalfaktoren bei *Drosophila*. HÖHNE und Mitarb. prüften die Nachkommenschaft einer 3-Tage-Serie, KAPLAN und LYON die Anzahl induzierter Letalfaktoren in Keimzellen, die innerhalb von 9 Tagen nach der Bestrahlung zur Befruchtung gelangten.

In der vorliegenden Arbeit wurden 6 aufeinanderfolgende Serien Cystein- oder Glutathion-vorbehandelter und anschließend bestrahlter *Drosophila*-Männchen untersucht, um einen möglichen Einfluß der Vorbehandlung auf die Auslösung rezessiver Letalfaktoren auch in prämeiotischen Keimzellstadien festzustellen. Die Ergebnisse der Versuche bestätigen HÖHNES Befunde an reifen Spermien nach Cystein-Vorbehandlung und lassen darüber hinaus keine Beeinflussung der Mutabilität in jüngeren Keimzellstadien erkennen. Der bei Summierung der Einzelversuche mit Cystein-Vorbehandlung in Serie VI nach dem χ^2 -Verfahren signifikante Unterschied der Mutationsraten vorbehandelter und nur bestrahlter Tiere ist nach Ansicht der Verfasserin nicht auf einen tatsächlichen Schutzeffekt des Cysteins zurückzuführen, da alle 15 Letalfaktoren der Gruppe B in der Nachkommenschaft eines einzelnen Männchens auftraten und somit wahrscheinlich auf ein einziges Mutationseignis zurückzuführen sind. Würde man die Anzahl der in ein und demselben Männchen induzierten Letalfaktoren von z.B. 15 auf 1 reduzieren, so müßte man dementsprechend auch die Zahl nichtmutierter Chromosomen reduzieren. Unter der (nicht bewiesenen) Annahme, daß mutierte und nichtmutierte Keimzellen, die in derselben Serie zur Befruchtung gelangten, die gleiche Anzahl von Teilungsschritten durchlaufen haben, müßte man auch die Zahl aller untersuchten Chromosomen auf 1/15 reduzieren. Man verringerte also die Anzahl der geprüften Chromosomen und erhielt damit einen größeren Fehler der Prozentsätze der gefundenen Letalfaktoren, während die Prozentsätze selbst unverändert blieben. In diesem Fall ist dann ein gesicherter Unterschied zwischen den Mutationsraten vorbehandelter und nur bestrahlter Tiere nicht mehr vorhanden.

Die Ursache für die negativen Resultate nach Vorbehandlung mit Thiolverbindungen könnte, falls die SH-Gruppen dieser Substanzen bei dem

Mechanismus ihrer Wirkung eine Rolle spielen, in der leichten Oxydierbarkeit dieser Gruppen im Cystein- und Glutathionmolekül liegen, die möglicherweise schon in dem relativ großen Zeitraum während der Injektion (bis 60 min) zur Disulfidbindung umgewandelt wurden, ehe sie eine schützende Wirksamkeit entfalten konnten.

Die unter dem Einfluß einer Bestrahlung gebildeten Peroxyde (BONET-MAURY 1951, EBERT 1955, SCHOLES, WEISS u. WHEELER 1956) sind offenbar für einen Teil der strahleninduzierten Schädigung verantwortlich. So sieht ALPER (1948) im Wasserstoffperoxyd die Ursache für die Strahleninaktivierung von Bacteriophagen. WARBURG und Mitarb. (1958) führen die größere Strahlenempfindlichkeit von Krebszellen im Vergleich zu normalen Zellen auf ihren geringeren Katalasegehalt zurück und sehen in ihrer Strahlenschädigung eine Schädigung durch Wasserstoffperoxyd. KIMBALL und Mitarb. (1952 a, b, 1955) erhöhten durch Zugabe von Katalase zum Medium die Überlebens- und Teilungsraten bestrahlter Paramaecien. Einen Einfluß der Katalase auf genetische Strahlenschäden konnten sie jedoch nicht feststellen. THODAY und READ (1947, 1949) erhielten an Wurzelspitzen von *Vicia faba* einen weit größeren Sauerstoffeffekt auf Wachstumsrate und Anzahl der Anaphase-Brücken und -Fragmente bei Anwendung einer Röntgenbestrahlung als nach α -Strahlung. Da die H_2O_2 -Bildung unter dem Einfluß von α -Strahlen im Gegensatz zu Röntgenstrahlung weitgehend unabhängig von der Anwesenheit von Sauerstoff ist, vermuten die Verfasser, daß H_2O_2 in ihren Versuchen das wirksame Agens war. Untersuchungen anderer Autoren, deren Ergebnisse bei verschiedenen Objekten auf eine mutagene Wirkung von Peroxyden hinweisen, wurden bereits in der Einleitung erwähnt. Es soll aber hier noch einmal auf Versuche von SOBELS (1956 a) hingewiesen werden, in denen sich Dihydroxy-dimethylperoxyd bei *Drosophila* als mutagen erwies und auch die strahleninduzierte Mutationsrate steigerte. Katalasegifte wie Cyanid, Azid und Formaldehyd (Formaldehyd kann außerdem mit H_2O_2 Dihydroxy-dimethylperoxyd bilden) erhöhten ebenfalls die Häufigkeit strahleninduzierter Mutationen bei *Drosophila* (SOBELS 1955, 1956 b, 1958, 1961). Kohlenmonoxyd, das ebenfalls Katalase hemmt, bewirkt nach Untersuchungen von FRITZNIGGLI (1959) einen strahlengenetischen Schutz bei *Drosophila melanogaster*, während es in Versuchen von CHANG und Mitarb. (1959) bei Verwendung eines Gemisches aus 9 Atm CO + 1 Atm Luft bei *Drosophila virilis* die Mutationsrate steigerte.

In den vorliegenden Versuchen, in denen der Einfluß von Peroxydase auf die strahleninduzierte Rate rezessiver Letalfaktoren geprüft wurde, zeigte sich eine deutliche Herabsetzung der Mutationsraten von der III. Serie an, die auch in allen folgenden Serien vorhanden war.

Ohne Einfluß auf die Signifikanz dieses Unterschiedes sind die spärlich aufgetretenen Nester, deren Letalfaktoren zudem nicht mit Sicherheit als identisch angesehen werden können. Da in Serie VIII bis X der Gruppe A die Mutationsrate mit 0,20% genau der spontanen Mutationsrate entspricht, erweist sich die Bestrahlung mit 1500 r nach vorheriger Applikation von Peroxydase als unwirksam.

Bei der Zusammenfassung der Werte aus mehreren Serien und darauf folgendem Vergleich zwischen vorbehandelten und nur bestrahlten Gruppen, wie er in den Peroxydase-Versuchen vorgenommen wurde, werden Keimzellen miteinander verglichen, die kein homogenes Material darstellen. Die in den Serien I bis X zur Befruchtung gelangten Spermien haben sich zur Bestrahlungszeit nicht im selben Stadium der Spermatogenese befunden. AUERBACH (1954) und FRITZ-NIGGLI (1959, 1961 a) analysierten die Empfindlichkeit verschiedener Stadien der Keimzellentwicklung gegen die mutagene Wirkung einer Röntgenbestrahlung durch Verwendung bestimmter Kriterien, wie Auftreten von crossing-over in der frühen Meiose, bzw. mit einer mehr direkten Methode, durch Bestrahlung verschiedener Larven- und Puppenstadien. Nach den Ergebnissen von AUERBACH ruft Bestrahlung von Spermatozyten in früher Meiose eine Periode extremer Sterilität der bestrahlten Männchen hervor. Die größte Anzahl rezessiver Letalfaktoren im X-Chromosom wird nach derselben Autorin offenbar in Spermatischen, vor allem während der morphologischen Umwandlung der Spermiogenese, induziert. Jedoch scheint eine erhöhte Empfindlichkeit gegen mutagene Strahlenwirkung schon in späten Meiosestadien aufzutreten. Nach FRITZ-NIGGLI sind ebenfalls Spermatischen und späte Spermatozyten die mutationsbereitesten Keimzellstadien, bei etwas geringerer Sensibilität der Spermatozyten.

In den vorliegenden Versuchen wurden die höchsten Mutationsraten in der II. und III. Serie beobachtet, die Fertilität der behandelten Männchen war in der III. Serie am stärksten herabgesetzt und in der IV. im Vergleich zur V. Serie noch vermindert. Es ist also anzunehmen, daß in der III. Serie größtenteils Keimzellen zur Befruchtung kamen, die sich zur Bestrahlungszeit in frühen Meiosestadien befanden, daneben aber auch solche, in denen die Meiose bereits weiter fortgeschritten war. Während die in der I. Serie verbrauchten Keimzellen zur Behandlungszeit vornehmlich schon als reife Spermien vorlagen, waren die der II. Serie zum selben Zeitpunkt im Spermatischenstadium, ein hoher Anteil von ihnen in der Spermiogenese. Weiterhin wird vermutet, daß Spermien, die in der IV. Serie zur Befruchtung gelangten, teilweise während der Bestrahlung schon die ersten Phasen der Meiose durchliefen, ihre Mehrzahl jedoch als Spermatozyten I. Ordnung vorlag.

In den Serien I und II, die behandelten postmeiotischen Keimzellstadien entsprechen, übte Vorbehandlung mit Peroxydase in gewissem Umfange eine steigernde Wirkung auf die strahleninduzierte Mutabilität aus. In der III. Serie zeigte sich bereits eine abfallende Tendenz in der Anzahl strahleninduzierter Letalfaktoren. In der IV. Serie wurde dieser Peroxydase-Einfluß deutlicher und blieb in allen nachfolgenden Bruten erhalten. Mit der Annahme, daß die hohe Mutationsrate, die in der II. Serie beobachtet wurde, aus der Bestrahlung von Spermatischen resultierte, weisen die Ergebnisse der vorliegenden Versuche darauf hin, daß Peroxydase nur in prämeiotischen und frühen meiotischen Keimzellstadien eine Verminderung der Anzahl strahleninduzierter Letalfaktoren bewirkte, in solchen Stadien also, die die höchste Empfindlichkeit gegenüber der Auslösung von Letalfaktoren noch nicht erreicht hatten.

Ob der Auflösung der Kernmembran in sich teilenden Zellen, auf die BOZEMAN und METZ (1949) auf Grund ihrer Untersuchungen an bestrahlten Chromosomen reifender Oozyten von *Sciara* hinweisen, dabei eine Bedeutung zukommt, kann nicht entschieden werden. Es besteht die Möglichkeit, daß die Kernmembran entweder für die in den vorliegenden Versuchen injizierte Peroxydase oder aber für außerhalb der Zellkerne gebildete organische Peroxyde eine Barriere darstellt, die nicht ohne weiteres überwunden werden kann. Die Gründe für eine unterschiedliche Reaktion der verschiedenen Keimzellstadien mögen aber auch in den zweifellos unterschiedlichen physiologischen Eigenschaften dieser Stadien zu suchen sein. Nicht ersichtlich ist jedoch, welcher Mechanismus zu einer Erhöhung in den Peroxydase-vorbehandelten Spermatiden (Serie II) verantwortlich sein könnte, sofern der beobachtete, aber statistisch nicht gesicherte Unterschied real ist. In diesem Zusammenhang möge jedoch darauf hingewiesen werden, daß durch somatische Strahlenschutzsubstanzen im genetischen Experiment ein Anstieg der strahleninduzierten Mutationsraten bewirkt werden kann. (Edington 1958).

FRITZ-NIGGLI (1958 a, 1959, 1961 a) und CHANG und Mitarb. (1959) stellten übereinstimmend fest, daß Herabsetzung des Sauerstoffdruckes durch Stickstoffzufuhr während einer Bestrahlung die Rate rezessiver Letalfaktoren in den Stadien stark vermindert, die gegen die mutagene Strahlenwirkung am empfindlichsten sind, also in Spermatiden und späten Spermatozyten. Zufuhr von Sauerstoff hat die entgegengesetzte Wirkung. Während Stickstoffzufuhr die Mutationsbereitschaft reifer Spermien und Spermatogonien kaum beeinflußt, hat Sauerstoff bei reifen Spermien einen deutlich verstärkenden Effekt. Diese Tatsache veranlaßte FRITZ-NIGGLI (1958 b, 1961 a), die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit verschiedener Keimzellstadien auf Unterschiede in ihrem intrazellulären Sauerstoffgehalt zurückzuführen. Der Sauerstoffdruck in Spermatozyten während der Meiose und in Spermatiden ist möglicherweise größer als in reifen Spermien und Spermatogonien. Da die sich teilende Zelle weniger atmet, erhöht sich die Konzentration des Sauerstoffs während der Zellteilung. In diesem Zusammenhang sei auf eine Veröffentlichung von TAYLOR (1961) hingewiesen, nach dessen Zusammenstellung der Sauerstoffverbrauch in Zellen verschiedener Organismen während der Teilung absinkt. SOBELS (1961) erwähnt jedoch, daß der intrazelluläre Sauerstoffgehalt nicht die einzige Ursache der verschieden starken Reaktion der Keimzellen während ihrer Entwicklung auf eine Bestrahlung sein kann, da es bisher noch nicht gelungen ist, durch Sauerstoffzufuhr die Empfindlichkeit reifer Spermien so zu erhöhen, daß sie die Mutationsbereitschaft empfindlichster Stadien erreichten. FRITZ-NIGGLI (1961 a) erwägt die Bedeutung des Wassergehaltes für die strahlenbedingte Auslösung von Mutationen. Sie weist auf die Entquellung der Chromosomen während der Spermiogenese hin, die zu einem geringen Wassergehalt der Chromosomen in reifen Spermien führt.

Sauerstoff und Wasser sind nun zwei für die strahleninduzierte Bildung von Peroxyden bedeutsame Agenzien. Es wäre daher möglich, daß die große Zahl von Letalfaktoren, die durch Strahlung in Spermatiden und

späten Spermatozyten ausgelöst wird, teilweise auf die Wirkung von Peroxyden zurückzuführen ist. Versuche von SOBELS (1955, 1956 b, 1958), in denen Vorbehandlung mit Katalasegiften (Cyanid, Azid, Formalin) zu einer Erhöhung der Mutationsrate in denselben strahlenempfindlichen Stadien führte, ließen diese Vermutung wahrscheinlich erscheinen. Ergebnisse desselben Verfassers (1956 a) nach denen Dihydroxy-dimethylperoxyd die strahleninduzierte Mutationsrate ebenfalls in den mutationsbereiten Keimzellen steigerte, wiesen in dieselbe Richtung. Mutationsversuche mit Strahlen verschiedener Qualität (30 MeV-Elektronen, 31 MeV-Photonen und 180 keV-Photonen), in denen die energiereiche Strahlung bei Spermatiden und Spermatozyten weniger effektiv als die energieärmere war, sich aber in reifen Spermien keine unterschiedliche Wirkung der verschiedenen Strahlenqualitäten beobachten ließ, veranlaßten FRITZ-NIGGLI (1958 a, b, c) zu der Annahme, daß bei reifen Spermien vornehmlich freie Radikale des Wassers, bei reifenden Keimzellen dagegen H_2O_2 und organische Peroxyde wirksam werden könnten. Bei energiereicheren Photonen (31 MeV-Photonen) liegen die Ionenpaare und damit die freien Radikale weiter auseinander als bei energieärmeren. Die Bildung von H_2O_2 nimmt dabei mit der Zahl der Ionenpaare, also auch der der freien Radikale, pro Einheit der Weglänge der Strahlung zu. Energieärmere Strahlung erzeugt also mehr Wasserstoffperoxyd als energiereiche Strahlung.

Katalase, die jedoch selbst sehr strahlenempfindlich ist (FORSSBERG 1946, 1947), vermochte aber die Anzahl strahleninduzierter Mutationen nicht herabzusetzen (vgl. FRITZ-NIGGLI 1958 b, SOBELS 1961). SOBELS (1958, 1960, 1961) führte weitere eingehende Untersuchungen zur Frage einer Beteiligung von Peroxyden an der mutagenen Strahlenwirkung durch. Er beobachtete eine Steigerung der Mutationsrate in strahlenempfindlichen Stadien als Resultat einer Bestrahlung mit hoher Dosisrate (mehr als 2000 r/min) und nachfolgender Behandlung der Männchen mit Cyanwasserstoffgas. Bei Anwendung niedriger Dosisraten (590 r/min oder 154 r/min) blieb bei sonst gleicher Versuchsanordnung diese Wirkung aus. Auch diese Ergebnisse lassen sich durch erhöhte Wasserstoffperoxyd-Produktion durch hohe Dosisraten erklären. Jedoch verstärkte Nachbehandlung mit HCN die bei Bestrahlung in reiner N_2 -Atmosphäre induzierte Anzahl von Mutationen in demselben Ausmaß wie bei Bestrahlung in O_2 -Atmosphäre. Da Peroxydbildung nur bei der Anwesenheit von Sauerstoff zu erwarten ist, folgert SOBELS, daß der Katalase-Hemmung und folglich strahleninduzierten Peroxyden bei dem Nachbehandlungseffekt des Cyanwasserstoffs auf die strahlenbedingte Mutationsauslösung in empfindlichsten Keimzellstadien keine Bedeutung zukommen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen auf eine Beteiligung von Peroxyden am strahleninduzierten Mutationsgeschehen in prämeiotischen Keimzellen und solchen Stadien, die sich in früher Meiose befinden, hin. Eine genauere Analyse beeinflubarer Stadien durch Aufgliederung der III. Serie in Eintagsbruten oder durch Untersuchungen an Larven- und Puppenstadien könnte aufschlußreich sein. Die Versuche geben jedoch keinerlei Hinweis, daß Peroxyde auch bei der Mutationsauslösung

empfindlichster Stadien der Spermatogenese, Spermatiden und späten Spermatozyten, beteiligt sind.

Im Zusammenhang mit der Wirkung, die strahleninduzierten Peroxyden offenbar zukommt, erscheint Verfasserin eine neuere Arbeit interessant, in der APELGOT und Mitarb. (1962) über Untersuchungen an bestrahlten Pyrimidinbasen berichten. Danach bildet Cytosin in wässriger Lösung unter dem Einfluß einer Bestrahlung ein sehr instabiles Peroxyd, das auf dem Wege seiner Umwandlung in Isobarbitursäure als Zwischenprodukt 5-Hydroxycytosin liefert, in dem APELGOT und Mitarb. einen Antagonisten des Thymins nachweisen konnten. Erwähnt sei ferner, daß durch Zugabe von Cysteamin zur Cytosin-Lösung die Peroxydation der Pyrimidinbase sehr herabgesetzt wurde.

Nach KEILIN und HARTREE (1945, zit. nach LATARJET und Mitarb. 1954) führt Katalase erst bei hohen Wasserstoffperoxyd-Konzentrationen eine katalatische Reaktion durch, bei der H_2O_2 sowohl als Substrat als auch als Wasserstoffdonator dient. Bei geringer H_2O_2 -Konzentration läuft dagegen eine peroxydatische Reaktion ab, bei der der Peroxyd-Sauerstoff auf geeignete Verbindungen, bei der Katalase z.B. Alkohole, übertragen wird. CHANCE (1952) postuliert, daß Zufuhr eines Überschusses eines geeigneten H-Donators die Zerlegung der Katalase- H_2O_2 -Verbindung (Komplex I) beschleunigt, daß also die Peroxyd-Konzentration eines katalasehaltigen Systems durch die Konzentration eines Wasserstoffdonators reguliert werden kann.

COLE und Mitarb. (1952) nehmen an, daß die Schutzwirkung, die Vorbehandlung mit Natriumnitrit in ihren Versuchen gegen den Strahlentod von Mäusen hervorrief, darauf beruhte, daß Natriumnitrit als Sauerstoffacceptor diene und auf diese Weise einen beschleunigten Abbau von Peroxyden herbeiführte.

LATARJET und Mitarb. (1954) erklären die restaurierende Wirkung von Katalase und Peroxydase auf UV-inaktivierte Bakterien durch die Fähigkeit dieser Enzyme, gekoppelte Oxydationen einzuleiten, die die schädigende Wirkung strahleninduzierten Wasserstoffperoxyds und organischer Peroxyde von lebenswichtigen Zellbestandteilen ablenken. Sie erwähnen, daß durch Zusatz von Äthylalkohol die katalatische Restauration erhöht wurde.

Wie Alkohole bei der Reaktion der Katalase, so kann Ascorbinsäure nach THEORELL (1957) bei der Reaktion der Peroxydase als Wasserstoffdonator dienen. Es wurde vermutet, daß Injektion von Ascorbinsäure auf diesem Wege die Peroxyd-Konzentration im bestrahlten Objekt herabsetzen und einen ähnlichen Einfluß wie Peroxydase-Injektion haben könnte. Vorbehandlung mit Ascorbinsäure erwies sich aber in den vorliegenden Versuchen als unwirksam, die Mutationsrate bestrahlter Männchen zu vermindern. Dieses Ergebnis könnte entweder dadurch erklärt werden, daß die im Objekt vorhandene Peroxydase durch die Bestrahlung weitgehend zerstört wurde, oder daß die Reaktion des Fermentes mit der zugeführten Ascorbinsäure nicht schnell genug ablief, um eine Anhäufung von Peroxyden zu verhindern. Nach MATKOVICS (1958) geht Peroxydase tatsächlich nur sehr langsam mit

Ascorbinsäure eine Reaktion ein. Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß mit einem geeigneteren H-Donator, z.B. Pyrogallol (vgl. ROSENBERG 1952), der Abbau von Peroxyden beschleunigt und eine Verminderung strahleninduzierter Mutationen in prämeiotischen Keimzellstadien erzielt werden könnte. Es besteht weiterhin die Möglichkeit, daß der durch Peroxydase auftretende Effekt durch gleichzeitige Vorbehandlung mit diesem Ferment und einem H-Donator (Pyrogallol) deutlicher werden könnte.

V. Zusammenfassung

Versuche anderer Autoren haben gezeigt, daß diejenigen Stoffe, welche in die zu Peroxydbildung führenden radiochemischen Prozesse eingreifen, eine somatische Strahlenschutzwirkung auszuüben vermögen. Die vorliegenden Versuche beziehen sich auf die Frage einer genetischen Strahlenschutzwirkung solcher Stoffe.

Als Substanzen wurden das peroxydabbauende Ferment Peroxydase sowie die reduzierend wirkenden Substanzen Cystein, Glutathion und Ascorbinsäure geprüft.

Die Untersuchungen wurden an den Raten rezessiver Letalmutationen des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* durchgeführt nach parenteraler Applikation der in Aqua dest. gelösten Substanzen an Männchen und anschließender Bestrahlung mit 1500 r bzw. 500 r. Die Prüfung erstreckte sich auf die reifen Spermien sowie auf alle Stadien der Spermatogenese.

Durch Peroxydase wurden die Mutationsraten in den prämeiotischen Stadien (Serie V bis X) gegenüber der Kontrolle signifikant herabgesetzt. Sie erreichen in den frühen Spermatogonien (Serie VIII bis X) lediglich die Höhe der spontanen Mutationsrate. Die Herabsetzung beginnt bereits in Keimzellen, die sich zur Zeit der Behandlung 7 bis 9 Tage vor der Reife hauptsächlich im Spermatocytenstadium befanden (Serie III). Die postmeiotischen Stadien (reife Spermien und Spermatiden, Serie I und II) zeigen diesen Peroxydaseeffekt nicht. Ihre Mutationsraten sind vielmehr gegenüber der Kontrolle leicht, aber nicht signifikant erhöht.

Cystein, Glutathion und Ascorbinsäure bewirkten im gesamten Spermatogenesezyklus keine Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten.

Die Ergebnisse werden unter genetischen, physiologischen und biochemischen Gesichtspunkten diskutiert. Sie bestätigen die Auffassung, daß eine chemische Schutzwirkung gegenüber ionisierenden Strahlen grundsätzlich möglich ist.

Literaturverzeichnis

- Alexander, M.L. and W.S. Stone, 1955: Radiation damage in the developing germ cells of *Drosophila virilis*. Proc. Nat. Acad. Sci. 41, 1046-1057
- Alper, T., 1948: Hydrogen peroxide and the indirect effect of ionizing radiations. Nature 162, 615-616
- Altenburg, L.S., 1954: The production of mutations in *Drosophila* by tertiary-butyl-hydroperoxide. Proc. Nat. Acad. Sci. 40, 1037-1040
- Apelgot, S., B. Ekert, R. Latarjet und N. Rebeyrotte, 1962: Radiobiologisch-chemische Untersuchung an Nukleinsäuren. Strahlentherapie 118, 54-66
- Auerbach, C., 1946: The induction by mustard gas of chromosomal instabilities in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, B 62, 307-320
- , 1954: Sensitivity of the *Drosophila* testis to the mutagenic action of X-rays. Z. Vererbungslehre 86, 113-125
- Bacq, Z.M. und P. Alexander, 1958: Grundlagen der Strahlenbiologie, Thieme-Verlag, Stuttgart
- und A. Herve, 1954: Ein chemischer Schutz gegen Röntgenstrahlen. Strahlentherapie 95, 215-237
- Baker, W.K. and C.W. Edington, 1952: The induction of translocations and recessive lethals in *Drosophila* under various oxygen concentrations. Genetics 37, 665-677
- and E.S. von Halle, 1952: The effect of oxygen concentration on the induction of dominant lethals. Genetics 37, 565 (Abstract)
- , 1953: The basis of the oxygen effect on X-irradiated *Drosophila* sperm. Proc. Nat. Acad. Sci. 39, 152-161
- and E. Sgourakis, 1950: The effect of oxygen concentration on the rate X-ray induced mutations in *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. 36, 176-184
- Barron, E.S.G., 1954: The role of free radicals and oxygen in reactions produced by ionizing radiations. Rad. Res. 1, 109-124

- and S. Dickman, 1949: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. II. Inhibition of sulfhydryl enzymes by alpha, beta, and gamma rays. *J. Gen. Physiol.* 32, 595-605
- , J.A. Muntz and T.P. Singer, 1949: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. I. Inhibition of enzymes by X-rays. *J. Gen. Physiol.* 32, 537-552
- and V. Flood, 1950: Studies on the mechanism of action of ionizing radiations. VI. The oxidation of thiols by ionizing radiations. *J. Gen. Physiol.* 33, 229-241
- , L. Nelson and M.J. Ardao, 1949: Regulatory mechanisms of cellular respiration. II. The role of soluble sulfhydryl groups as shown by the effect of sulfhydryl reagents on the respiration of sea urchin sperm. *J. Gen. Physiol.* 32, 179-190
- Bonet-Maury, P., 1951: Hydrogen peroxide formation in water exposed to ionizing radiations. *Brit. J. Radiol.* 24, 422-428
- Bozeman, M.L. and C. Metz, 1949: Further studies on sensitivity of chromosomes to irradiation at different stages in oocytes of *Sciara*. *Genetics* 34, 285-314
- Chance, B., 1952: The state of catalase in the respiring bacterial cell. *Science* 116, 202-203
- Chang, T.-H., F.D. Wilson and W.S. Stone, 1959: Genetic radiation damage reversal by nitrogen, methane, and argon. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 45, 1397-1404
- Cole, L.J., V.P. Bond and M.C. Fishler, 1952: Preprotection of mice against X-irradiation mortality by sodium nitrite. *Science* 115, 644-646
- D'Amato, F. and A. Gustafsson, 1948: Studies on the experimental control of the mutation process. *Hereditas* 34, 181-192
- Ebert, M., 1955: H₂O₂-Bildung durch ionisierende Strahlung und deren Bedeutung für die Strahlenbiologie. *Strahlentherapie* 97, 71-74
- Edington, C.W., 1958: Effect of S, 2-aminoethylisothiuronium bromide hydrobromide (AET) on the induction of dominant and sex-linked recessive lethals in *Drosophila melanogaster*. *Amer. Naturalist* 92, 371-374
- Forssberg, A., 1946: The action of roentgen rays on the enzyme catalase. *Acta Radiologica* 27, 281-293
- , 1947: Mechanism of the action of X-rays on enzymes in water-solution. *Nature* 159, 308-309

- Fritz-Niggli, H., 1958 a: Different responses (production of mutations) of diverse stages of spermatogenesis to changes in oxygen tension, chemical environment, and quality of radiation (10-30 Mev electrons, 31 Mev- and 180 kev-Photons). Rad. Res. 9, 117 (Abstract)
- , 1958 b: Mögliche Ursachen der verschiedenen Strahlenempfindlichkeit des Erbmaterials in Keimzellen unterschiedlichen Alters. Naturwissenschaften 45, 557-564
 - , 1958 c: Abhängigkeit der Mutationsentstehung von der Strahlenqualität (30 MeV-Elektronen, 31 MeV-Photonen und 180 KeV-Photonen). Naturwissenschaften 45, 117-118
 - , 1959: Die verschiedene Beeinflussung der Mutabilität reifer und unreifer Keimzellen durch Bestrahlung in N₂-, O₂- und CO-Atmosphäre. Strahlentherapie 109, 402-411
 - , 1959: Strahlenbiologie, Grundlagen und Ergebnisse. Thieme-Verlag, Stuttgart
 - , 1961 a: Neue Befunde und Deutung der relativen Strahlenresistenz des genetischen Materials in reifen Spermien und Urkeimzellen. Strahlentherapie 116, 340-353
 - , 1961 b: Beeinflussung der strahleninduzierten Mutabilität durch 2,4-Dinitrophenol bei Drosophila. Naturwissenschaften 48, 650-651
- Haas, F.L., E. Dudgeon, F.E. Clayton and W.S. Stone, 1952: Frequency of chromosomal rearrangements as related to rate of irradiation, temperature, and gases. Genetics 37, 589-590 (Abstract)
- Höhne, G., H.A. Künkel und R. Struckmann, 1955: Die strahleninduzierte Mutationsrate bei Drosophila nach Cysteinapplikation. Naturwissenschaften 42, 491-492
- Jones, M.M., 1960: An alternative mechanism for chemical protection against radiation damage. Nature 185, 96-97
- Kaplan, W.D. and M.F. Lyon, 1953: Failure of mercaptoethylamine to protect against the mutagenic effects of radiation. I. Experiments with Drosophila. Science 118, 776-777
- Kimball, R.F. and N. Gaither, 1952 a: Role of externally produced hydrogen peroxide in damage to Paramecium aurelia by X-rays. Proc. Soc. Exper.Biol. Med. N.Y. 80, 525-529
- , 1952 b: The role of externally produced hydrogen peroxide in the action of X-rays upon Paramecium aurelia Genetics 37, 594-595 (Abstract)

- , J.Z. Hearon and N. Gaither, 1955: Tests for a role of H_2O_2 in X-ray mutagenesis. II. Attempt to induce mutations by peroxide. *Rad. Res.* 3, 435-443
- Latarjet, R., L.R. Caldas, B. Miletic and P. Morenne, 1954: Chemical restoration in irradiated microorganisms. *Brit. J. Radiol.* 27, 54-56
- Lüers, H., 1959: Megaphen-Vorbehandlung und strahleninduzierte Mutationsrate bei *Drosophila melanogaster*. *Atompraxis* 5, 288-290
- Lüers, H. und G. Röhrborn, 1961: Genetische Schäden durch Chemotherapeutika. *Wissen und Praxis*, Heft 22, 3-23
- Matkovics, B., 1958: Einige Bemerkungen zum Wirkungsmechanismus der Peroxydase. *Naturwissenschaften* 45, 131-132
- Mikaelson, K., 1952: The protective effect of glutathione against radiation-induced chromosome aberrations. *Science* 116, 172-174
- , 1954: Protective properties of cysteine, sodium hyposulfite and sodium cyanide against radiation induced chromosome aberration. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 40, 171-178
- Nakao, Y., Y. Tazima and T. Sugimura, 1955: Failure of mercaptoethylamine and cysteine to protect the silkworm against the mutagenic and lethal effects of radiation. *Rad. Res.* 3, 400-406
- Patt, H.M., D.E. Smith, E.B. Tyree and R. L. Straube, 1950: Further studies on modification of sensitivity to X-rays by cysteine. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N.Y.* 73, 18-21
- , E.B. Tyree, R.L. Straube and D. E. Smith, 1949: Cysteine protection against X-irradiation. *Science* 110, 213-214
- Rajewsky, B., 1952: The limits of the target theory of the biological action of radiation. *Brit. J. Radiol.* 25, 550-552
- Rosenberg, J.N., 1952: The antithyroid activity of some compounds that inhibit peroxidase. *Science* 116, 503-505
- Scholes, G. and J. Weiss, 1960: Organic hydroxyhydroperoxides: a class of hydroperoxides formed under the influence of ionizing radiations. *Nature* 185, 305
- and C.M. Wheeler, 1956: Formation of hydroperoxides from nucleic acids by irradiation with X-rays in aqueous solutions. *Nature* 178, 157

- Sobels, F.H., 1955: The effect of pretreatment with cyanide and azide on the rate of X-ray induced mutations in *Drosophila*. *Z. Vererbungslehre* 86, 399-404
- , 1956 a: Organic peroxides and mutagenic effects in *Drosophila*. *Nature* 177, 979-982
- , 1956 b: The effect of formaldehyde on the mutagenic action of X-rays in *Drosophila*. *Experientia* 12, 318-321
- , 1958: The enhancing effect of posttreatment with cyanide on the mutagenic action of X-rays in *Drosophila*. *Rad. Res.* 9, 186 (Abstract)
- , 1960: Chemical steps involved in the production of mutations and chromosome aberrations by X-irradiation in *Drosophila*. I. The effect of posttreatment with cyanide in relation to dose-rate and oxygen tension. *Int. J. Rad. Biol.* 2, 68-90
- , 1961: Chemische Beeinflussung des röntgeninduzierten Mutationsprozesses bei *Drosophila*. *Naturwissenschaften* 48, 146-155
- Taylor, J.H., 1961: Physiology of mitosis and meiosis. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 12, 327-344
- Theorell, H., 1957: The nature and mode of action of oxidation enzymes. *Experientia* 13, 2-8
- Thoday, J.M. and J. Read, 1947: Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by X-rays. *Nature* 160, 608
- , 1949: Effect of oxygen on the frequency of chromosome aberrations produced by alpha-rays. *Nature* 163, 133-134
- Wagner, R.P., C.H. Haddox, R. Fuerst and W.S. Stone, 1950: The effect of irradiated medium, cyanide and peroxide on the mutation rate of *Neurospora*. *Genetics* 35, 237-248
- Warburg, O., W. Schröder, H. Gewitz und W. Völker, 1958: Über die selektive Wirkung der Röntgenstrahlen auf Krebszellen. *Naturwissenschaften* 45, 192-193
- Weiss, J., 1946: Biological action of radiations. *Nature* 157, 584
- Westergaard, M., 1957: Chemical mutagenesis in relation to the concept of the gene. *Experientia* 13, 224-234

Whiting, A.R., 1954: The effects of oxygen on the frequency of X-ray induced mutations in *Habrobracon* eggs. *Genetics* 39, 851-858

Wyss, O., J.B. Clark, F.L. Haas and W.S. Stone, 1948: The role of peroxide in the biological effects of irradiated broth. *J. Bacteriol.* 56, 51-57

Lebenslauf

Am 30. Oktober 1932 wurde ich als Tochter des Diplom-Chemikers Dr. Paul Winterfeld und seiner Ehefrau Edith in Stettin geboren. Meine Schulausbildung erhielt ich an Oberschulen in Dresden-Neustadt, Pirna/Elbe und Berlin. Am 8. Juni 1951 legte ich an der Käthe-Kollwitz-Schule, Berlin, Pasteurstr., die Reifeprüfung ab.

Ab Wintersemester 1951/52 habe ich an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Freien Universität Berlin Zoologie studiert. Ich besuchte vor allem Vorlesungen und Praktika über Zoologie, allgemeine Biologie und Genetik bei den Herren Professoren Dr. Ulrich, Dr. Lüers, Dr. Nachtsheim, Dr. Herter, Dr. Günther und Dr. Kemper, über Botanik bei Herrn Professor Dr. Drawert und Herrn Dr. Schulze. Meine Lehrer auf den Gebieten der Chemie, Physik und physikalischen Chemie waren die Herren Professoren Dr. Lautsch, Dr. Lorenz, Dr. Riemschneider, Dr. Lassen und Dr. Überreiter.

Am 15. Februar 1955 legte ich die Vorprüfung zum Diplomexamen in Biologie ab.

Meinem hochverehrten Doktorvater, Herrn Professor Dr. Lüers danke ich sehr herzlich für die Stellung eines Themas, für wohlwollende Unterstützung meiner Arbeit und die Gewährung eines Arbeitsplatzes im Institut für Genetik.

gez. Gisela Winterfeld

